新酶催化的长链脂肪族γ-, δ-酮酸/酮酯高立体选择性不对称还原研究

白云鹏*，张超，李春秀，许建和

光学纯脂肪族羟基酸及其衍生物是重要的手性砌块，可以用于制备多种天然产物或生物活性分子。例如，长链γ-, δ-羟基酸通过分子内环化得到的手性内酯，是一种重要的香料分子，在食品和精细化工领域有重要的应用价值。研究表明酮酸或酮酯的不对称还原反应是合成手性羟基酸/羟基酯最高效和最具原子经济性的路径。然而，迄今为止绝大多数研究报道的酶或化学催化剂作用的底物范围局限于α-, β-芳香族酮酯或短链酮酯，除酿酒酵母、毕赤酵母等细胞催化以外，针对长链脂肪族γ-, δ-酮酸/酮酯的酶催化高立体选择性不对称还原反应仍然是一个重大挑战。因此，挖掘和改造对长链脂肪族γ-, δ-酮酸/酮酯具有高活力和高选择性的新酶具有重要的科学和应用价值。

本文本论文首先采用传统方法从土壤中筛选到能够不对称还原4-羰基癸酸的新型催化剂 *Pseudomonas panipatensis*。接着将该野生菌进行全基因组测序，以基因狩猎的方法从该菌中成功克隆出目标酶 *Pp*CR（*Pseudomonas panipatensis* carbonyl reductase），该羰基还原酶的辅酶依赖型为NADPH。然后以 *Pp*CR 为探针，通过数据库挖掘，筛选到催化性能更优良的羰基还原酶 *Sm*CR（*Serratia marcescens* carbonyl reductase）。对 *Sm*CR 的催化性质进行研究，发现其最适反应pH为6.0，最适反应温度为40^{o}C。*Sm*CR 在30oC下相对稳定，半衰期为90 h。在40^{o}C和50^{o}C下的半衰期为50 h 和15 h。对于4-羰基癸酸，*Sm*CR 的 K_{m} 值为1.26 mM，k_{cat} 为0.128 min^{-1}。

在100 mL 100 mM的pH 6.0磷酸钠缓冲液中进行手性内酯的制备反应，4-羰基癸酸的浓度为2 mM，获得产物(*R*)-γ-癸内酯的ee值为99%，分离得率为72%。以5-羰基癸酸为底物在相同条件下进行制备，获得ee值为95%的(*R*)-γ-癸内酯，分离得率为70%。论文结果证明 *Sm*CR 是首个不对称还原4-羰基癸酸和5-羰基癸酸的还原酶，在(*R*)-γ-癸内酯和(*R*)-γ-癸内酯的生产具有潜在的应用价值。

作者：白云鹏

出生年月：1982年5月

学历：博士

现工作单位：华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室

职称：副教授

联系方式：上海市梅陇路130号实验18楼911室，200237。E-mail: ybai@ecust.edu.cn